



# OVERVIEW OF ADVANCED IMAGE ANALYSIS METHODS AND TOOLS IN MICROSCOPY

Velickova, N

Faculty of medical sciences  
University “Goce Delcev” – Stip  
R.Macedonia

# ПРЕГЛЕД НА НАПРЕДНИ ДИГИТАЛНИ МЕТОДИ И АЛАТКИ ВО МИКРОСКОПИЈАТА

Величкова, Н.

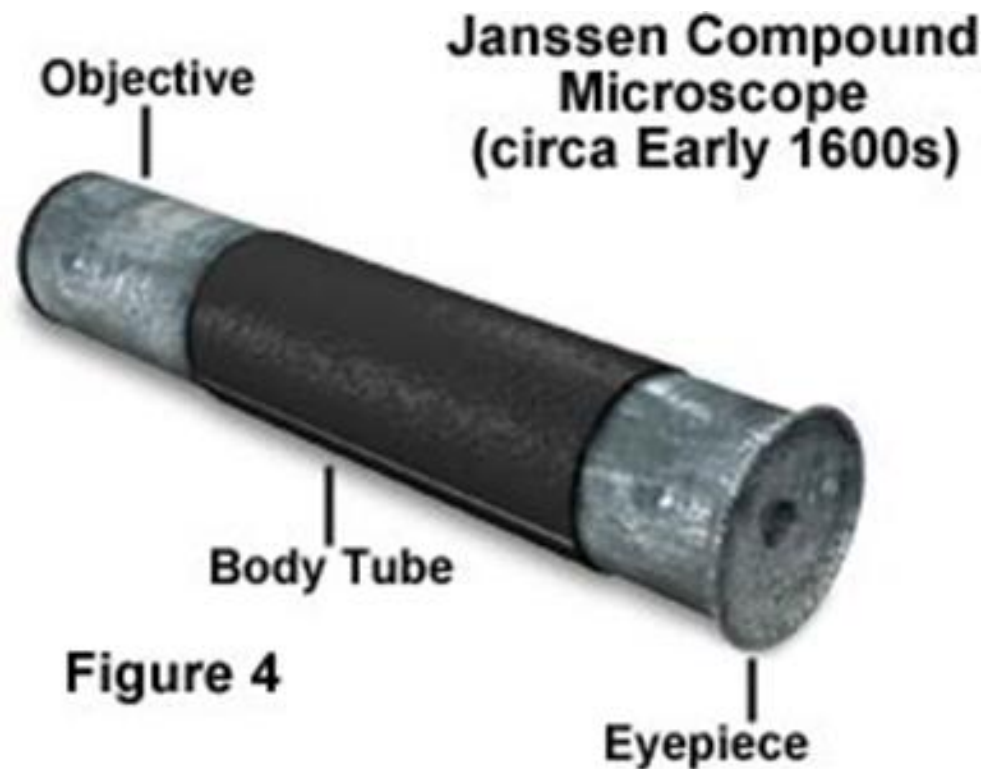
Факултет за медицински науки

Универзитет “Гоце Делчев” – Штип

Р.Македонија

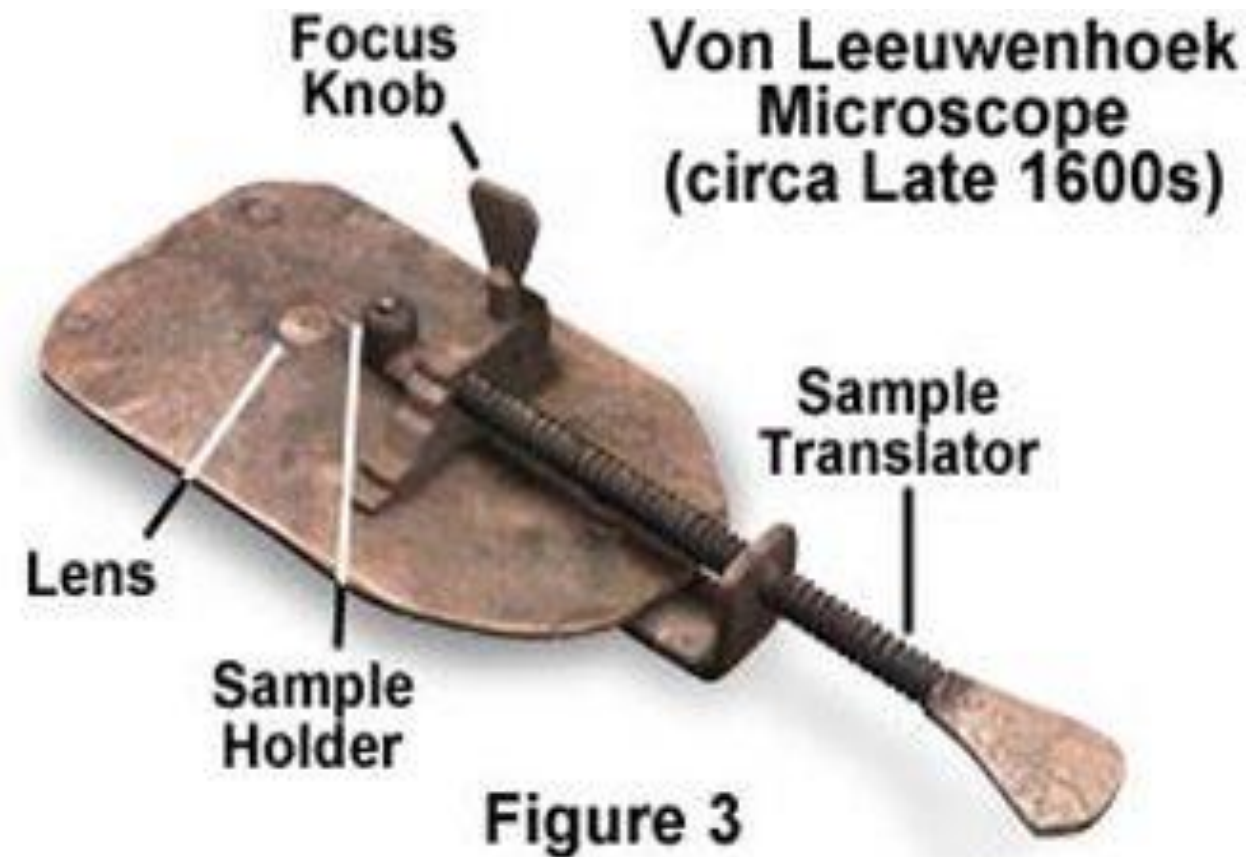
# ОД ЛУПА ДО МИКРОСКОП

- Euklid, Ptolomej, Alhazan
- Hans i Zacharias Janssen (Холандија, 1590)
- $\times 3$  и  $\times 9$



# ANTON VAN LEEUWENHOEK (1632-1723)

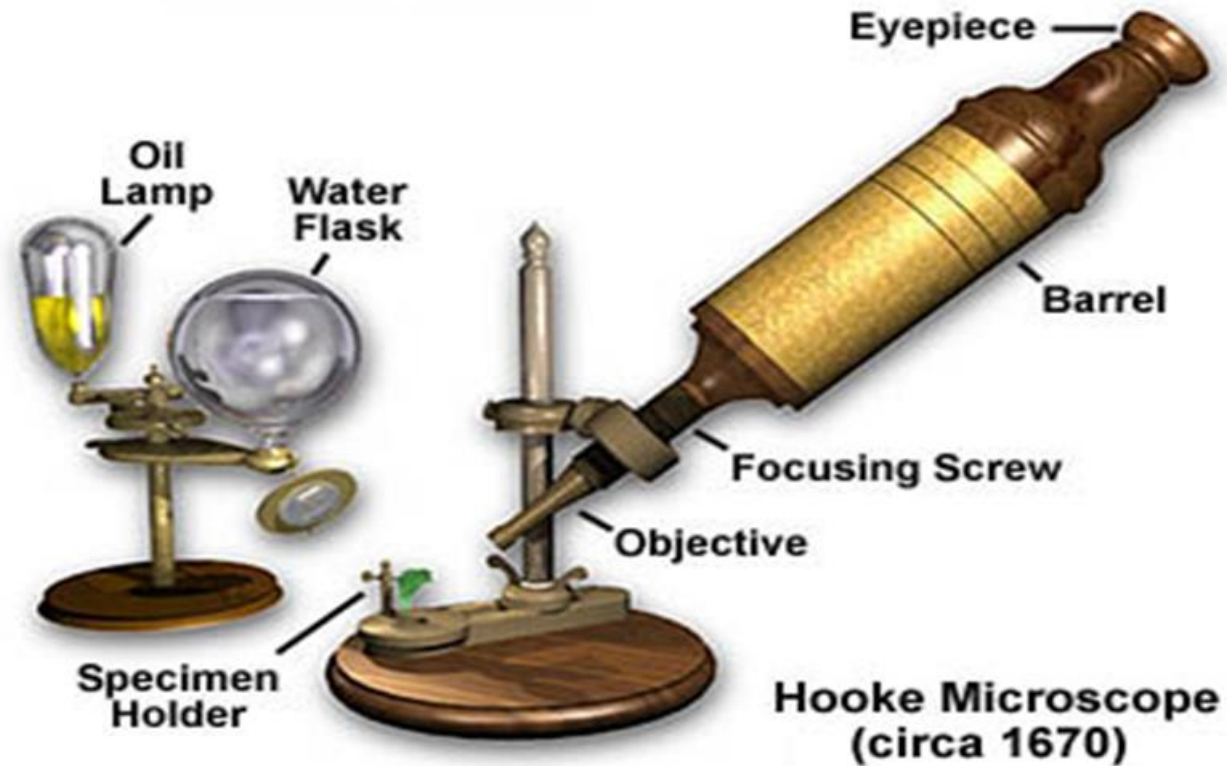
- Прв ги опишува бактериите и протозоите, ја објаснува теоријата на циркулацијата на крв
- Прост микроскоп со една леќа
- Биконкавни леќи со зголемување 70-250x





# ROBERT HOOKE (1635-1703 )

- Плуто
- “Микрографија” (1665г)
- Први клетки



# МИКРОСКОПИ ВО 17 И 18 ВЕК

John Cuff – микроскоп со ефикасен фокусен механизам

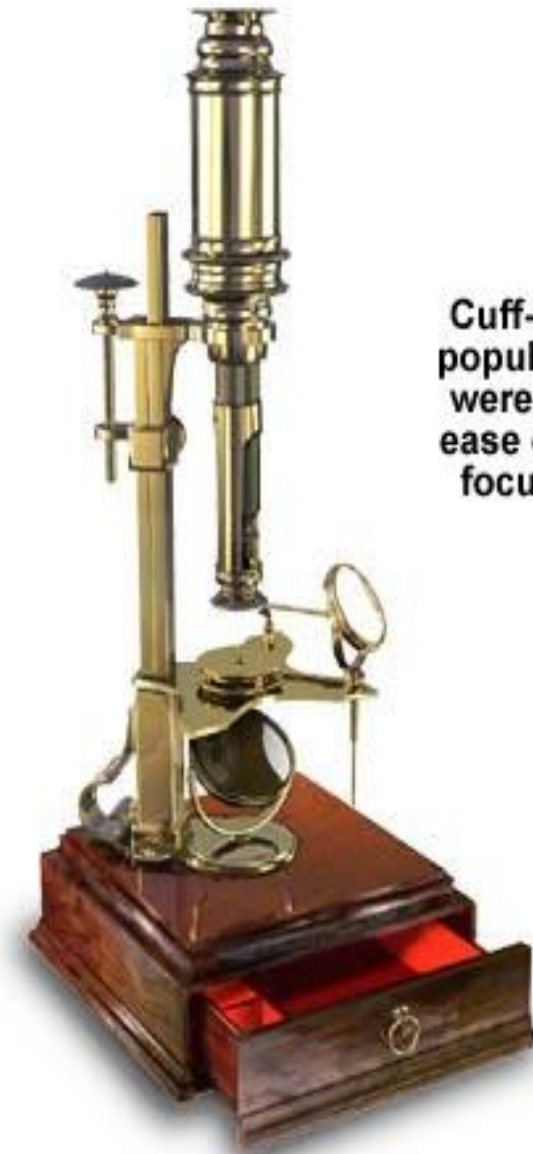
GEORGE ADAMS  
WILLIAM I SAMUEL JONES

Унапреден Cuffov микроскоп

(постојат функционални ножици, движечјка масичка, кондензор и огледало)



**William and Samuel Jones  
Simple Botanical  
Microscope  
(circa 1801-1825)**



**Cuff-style microscopes,  
popular in the mid-1700s,  
were the first to provide  
ease of use and accurate  
focusing mechanisms.**

# 1886 ERNST ABBE И CARL ZEISS

- Вклучуваат ахроматски објективи, сликата е со редуцирани сферични аберации и без дисторзија на бои

Vanox model Olympus /1971

Микроскопи на 20-век, Olympus, Nikon, Carl Zeiss ....



**Nikon's First  
Microscope  
(circa early 1900s)**



**Olympus  
Vanox  
Microscope  
(circa 1971)**



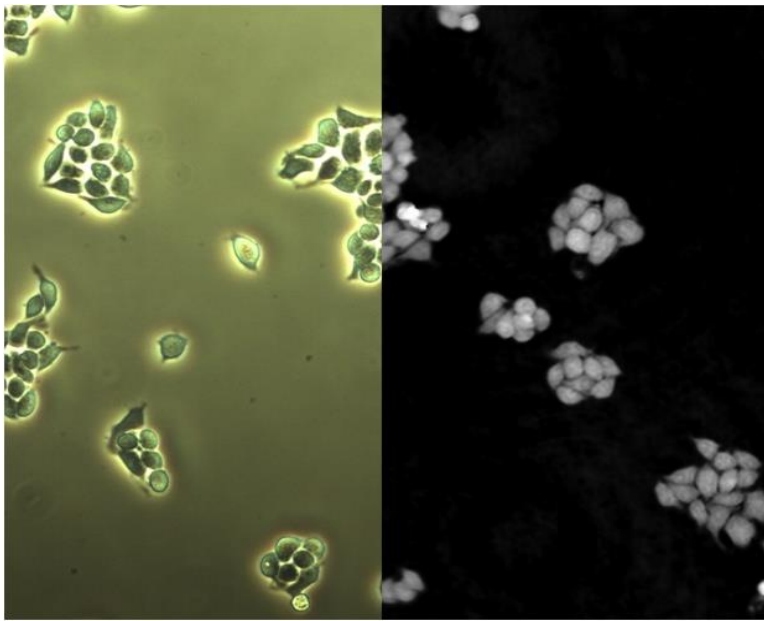
# СВЕТЛОСНА МИКРОСКОПИЈА

Микроскоп со темно поле/примена на спцијален кондензор со затемнет централен дел

- Светлосен сноп
- Зголемување 1500x
- Примероците 1- 20  $\mu m$
- Резолуција (развојната моќ 250nm)- најмалото растојание помеѓу две точки, кои се гледаат раздвоено



Фазно-контрасен микроскоп  
Клеточни култури/Cernike (Frizs Zernuke)  
1936



Поларизационен микроскоп/поларизатор и анализатор/детекција на молекуларната ориентација во ткивен примерок/





# ФЛУОРОСЦЕНТЕН МИКРОСКОП

Извор на светлина/живина ламба

Кондензор со темно поле

3 сета на филтри низ кои поминува светлина пред да стигне до окото

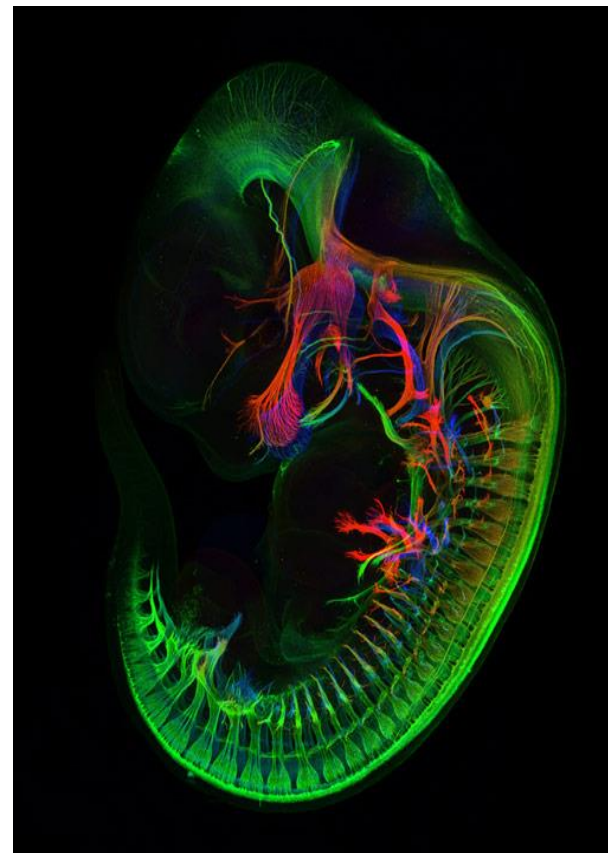
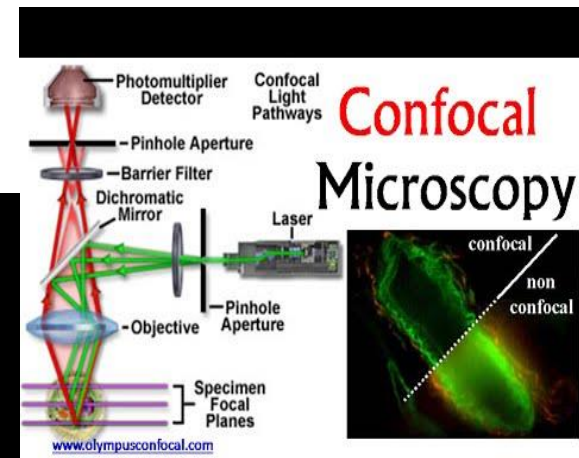
Молекулите ја апсорбираат енергијата од електромагнетното поле/екситација/флуоросценција

Примена на флуорохром, супстанција со која се третираат супстанциите за да дојде до флуоросценција



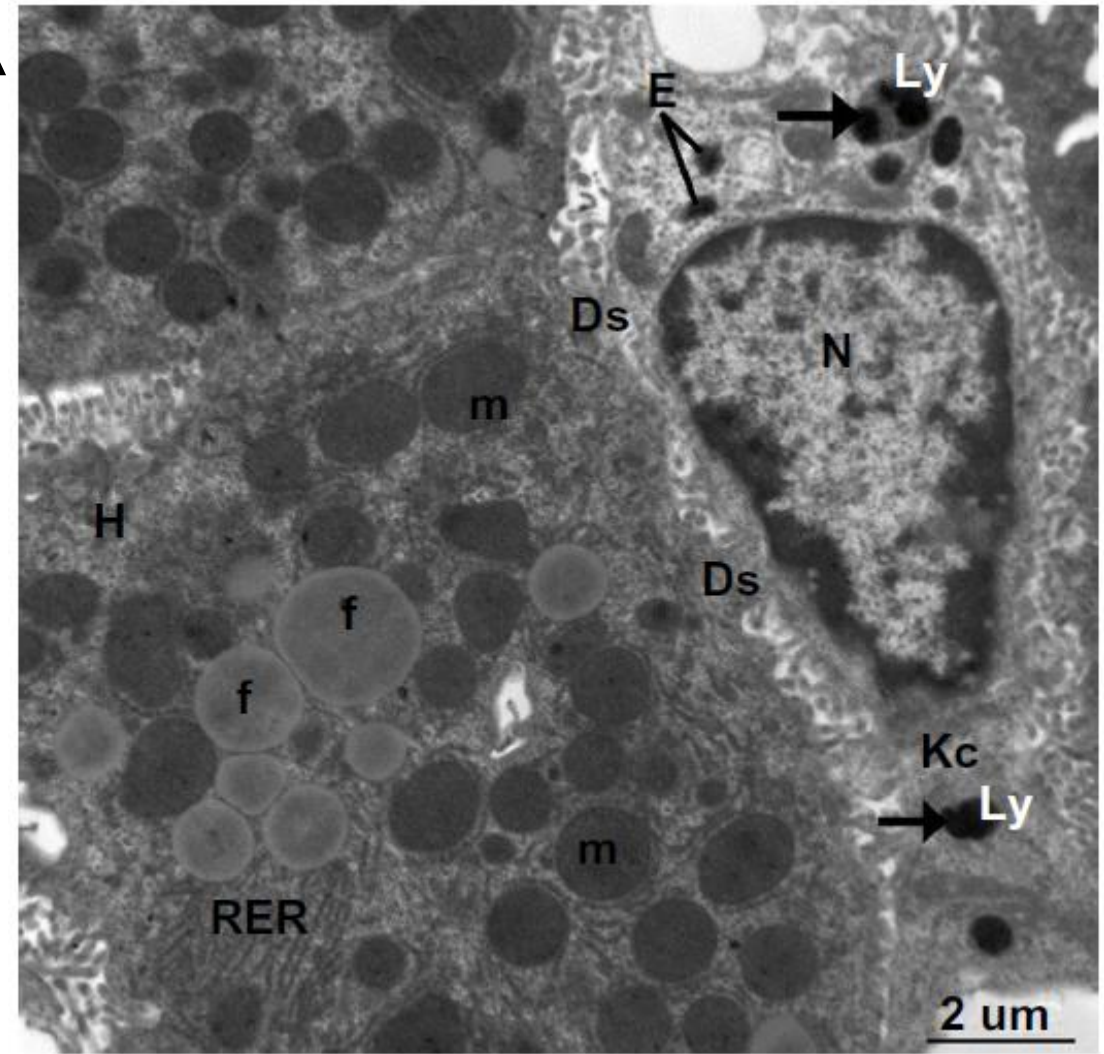
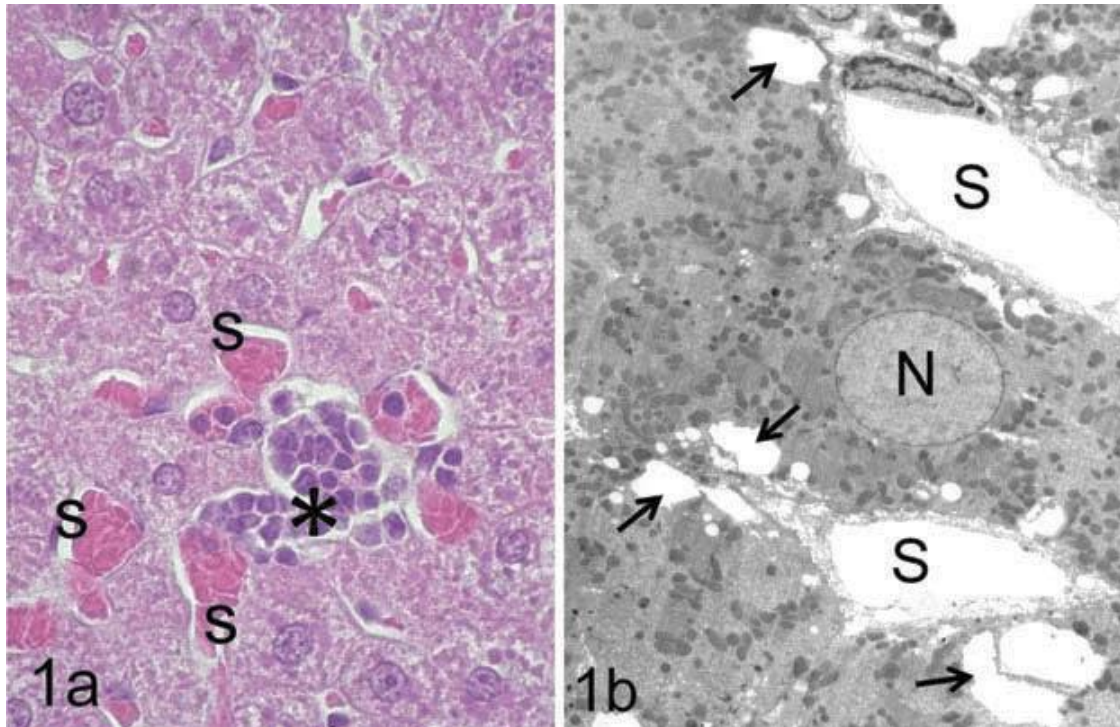
Конфокален микроскоп

- Ласерскиот сноп се фокусира на мало подрачје
- Примерокот е флуоросцентен
- Голема резолуција
- Можност за реконструкција на 3-D СЛИКИ



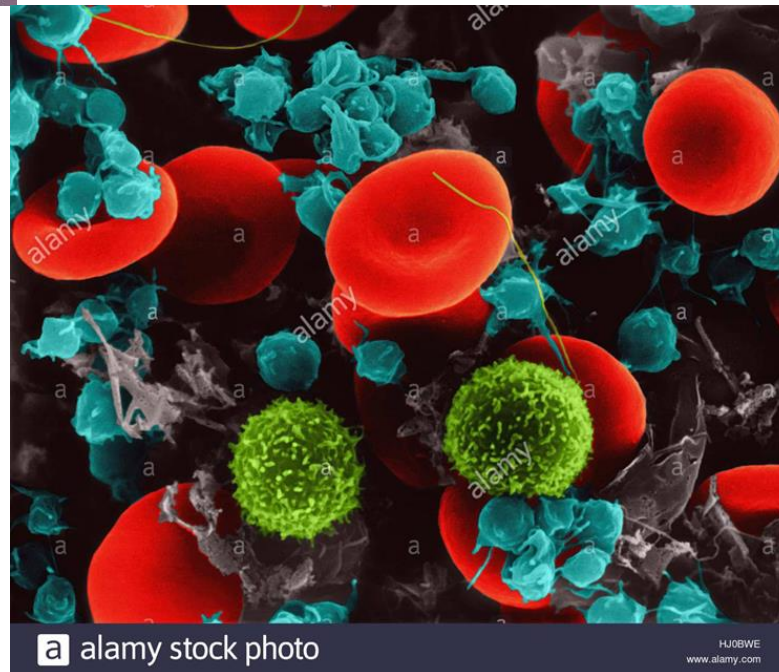
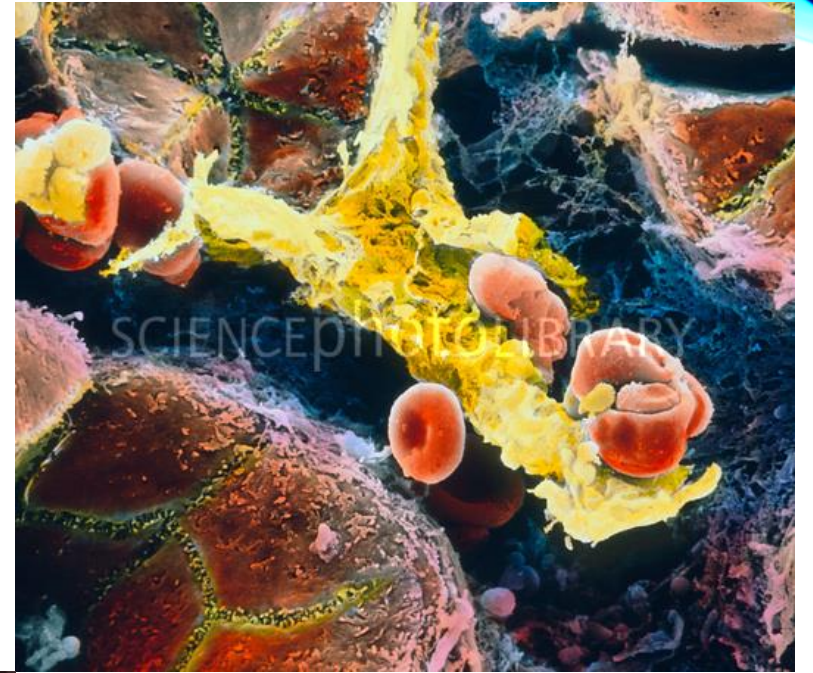
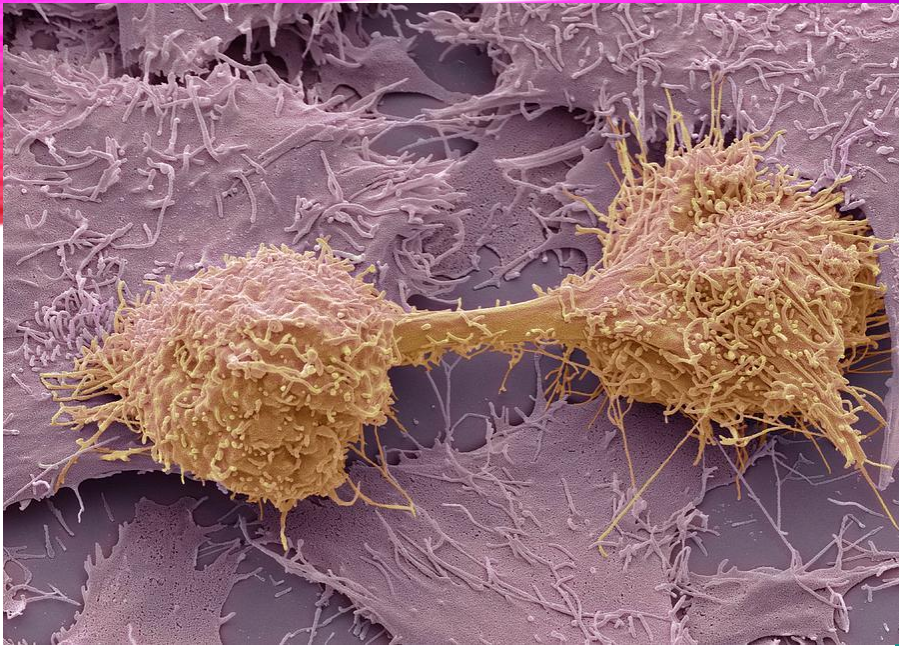
# ЕЛЕКТРОНСКА МИКРОСКОПИЈА

- Сноп на електрони
- Системот на леќи со ЕМ
- Вакум во кој електроните се движат
- SEM 100 000x (, Binig и Rorer, Нобелова награда за физика, 1986)
- TEM 1000 000x (50-100nm) (контрасирани со Pb/Ur)



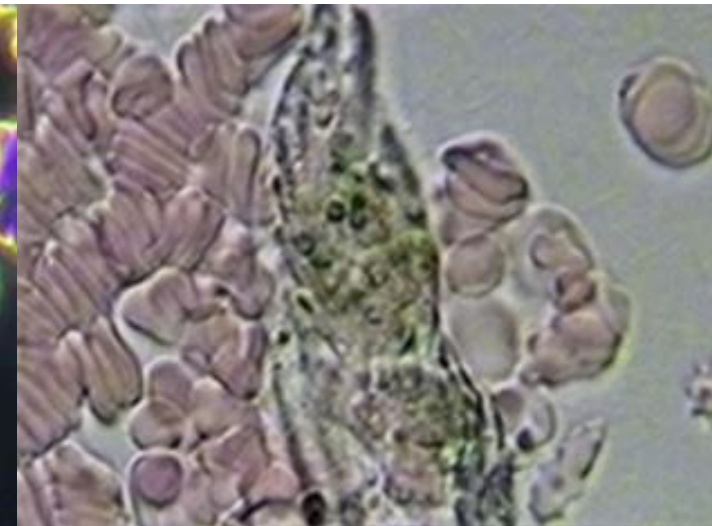
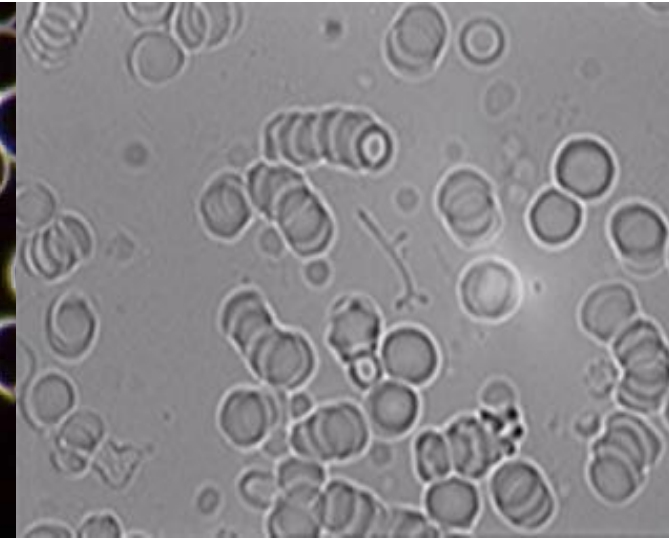
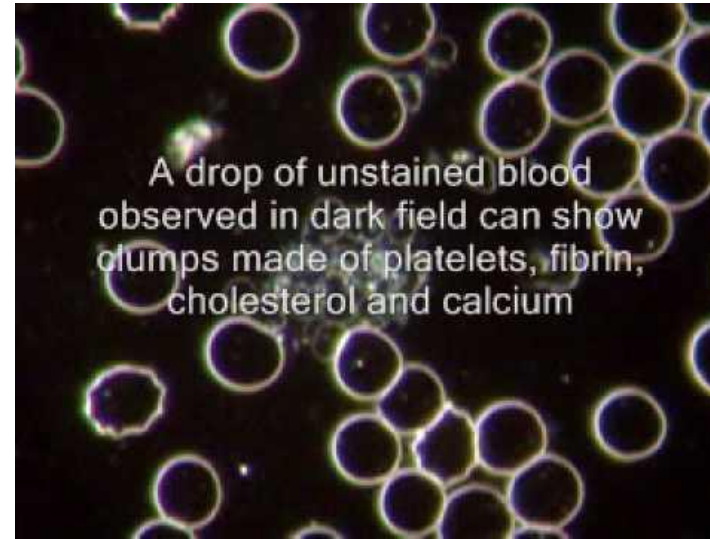
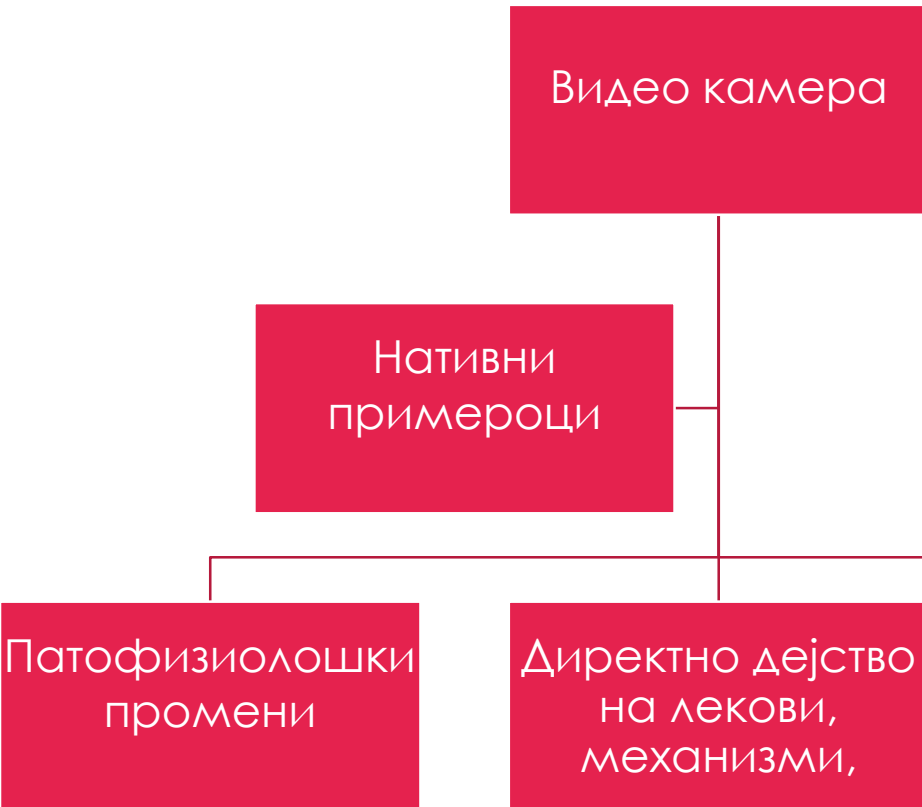
**Abbreviations:** Ds, Disse's space; E, endosomes; f, fat globules; H, hepatocyte; Kc, Kupffer cells; Ly, lysosomes; m, mitochondria; N, nucleus; RER, rough endoplasmic reticulum.





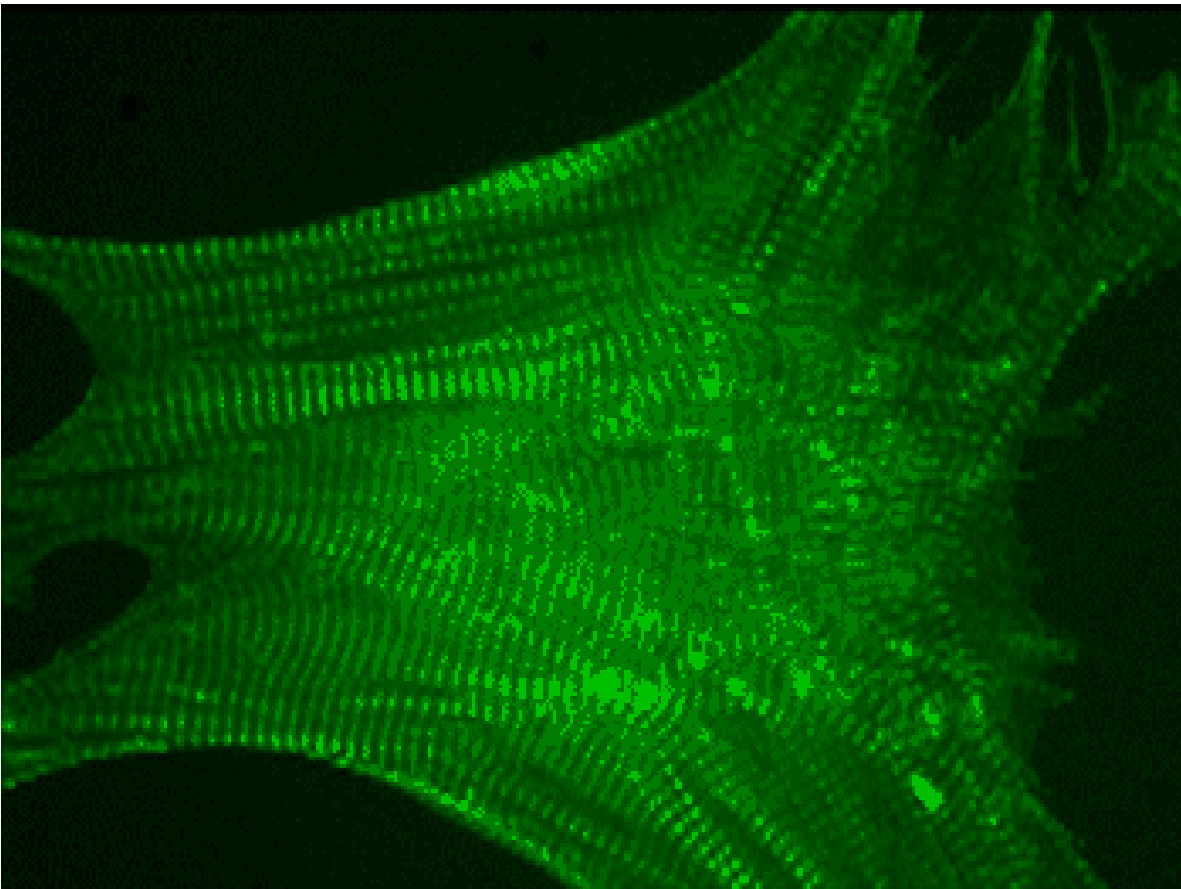


# ПРЕДНОСТИ

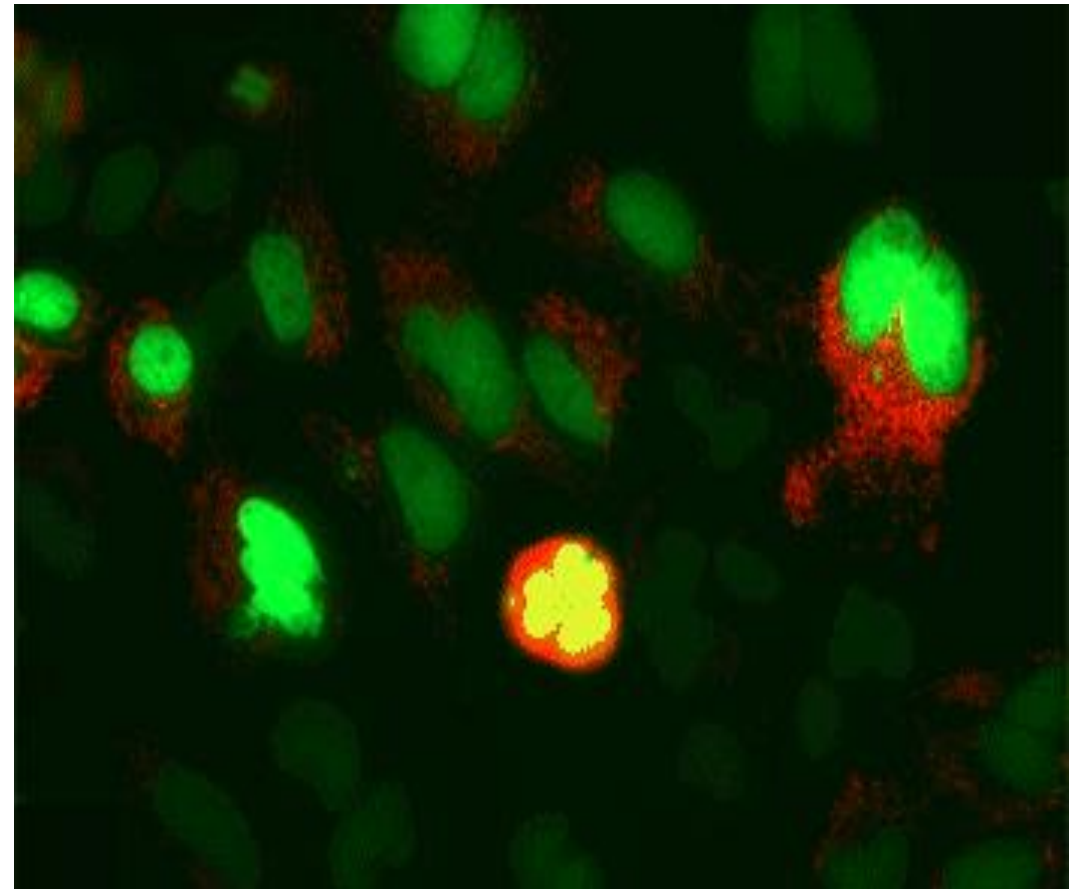


антиоксиданти

**Spontaneous contractions in mouse embryonic stem cell–  
derived cardiomyocytes, transduced with CellLight® Actin-  
GFP**



**Live-cell fluorescence imaging (red and green channels)  
capturing mitotic division in HeLa cells. Cells were  
transduced with CellLight® Histone 2B-GFP and Mitochondria  
RFP**



# ОБРАБОТКА И ДИГИТАЛИЗАЦИЈА (IMAGE ANALYSIS)

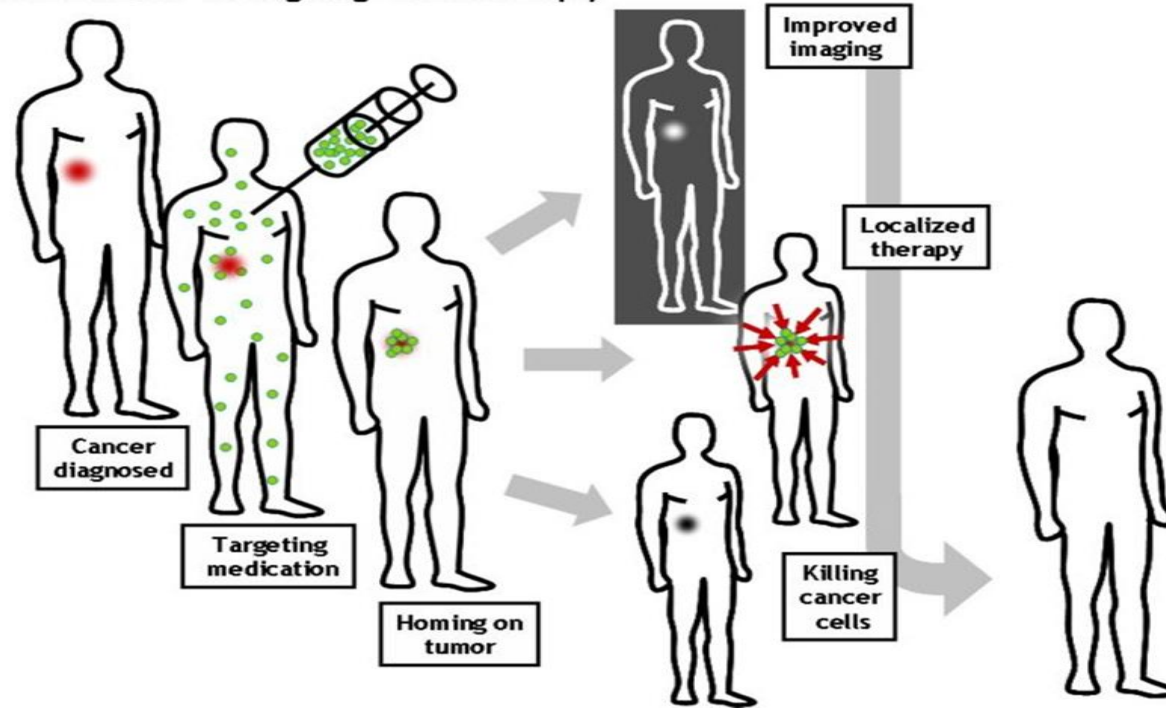




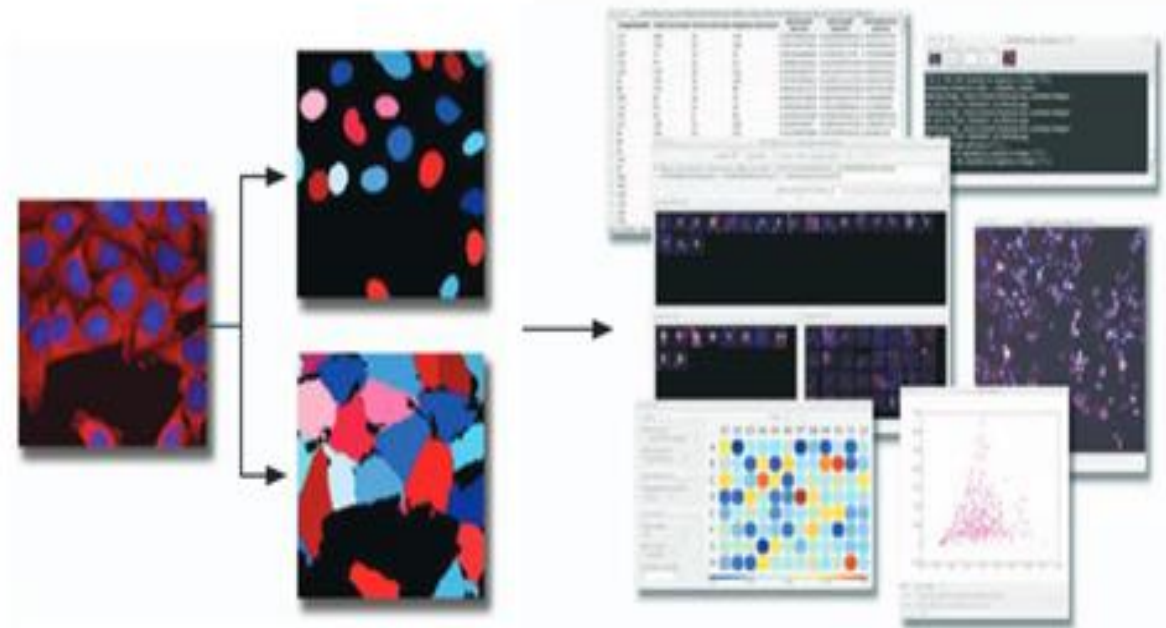
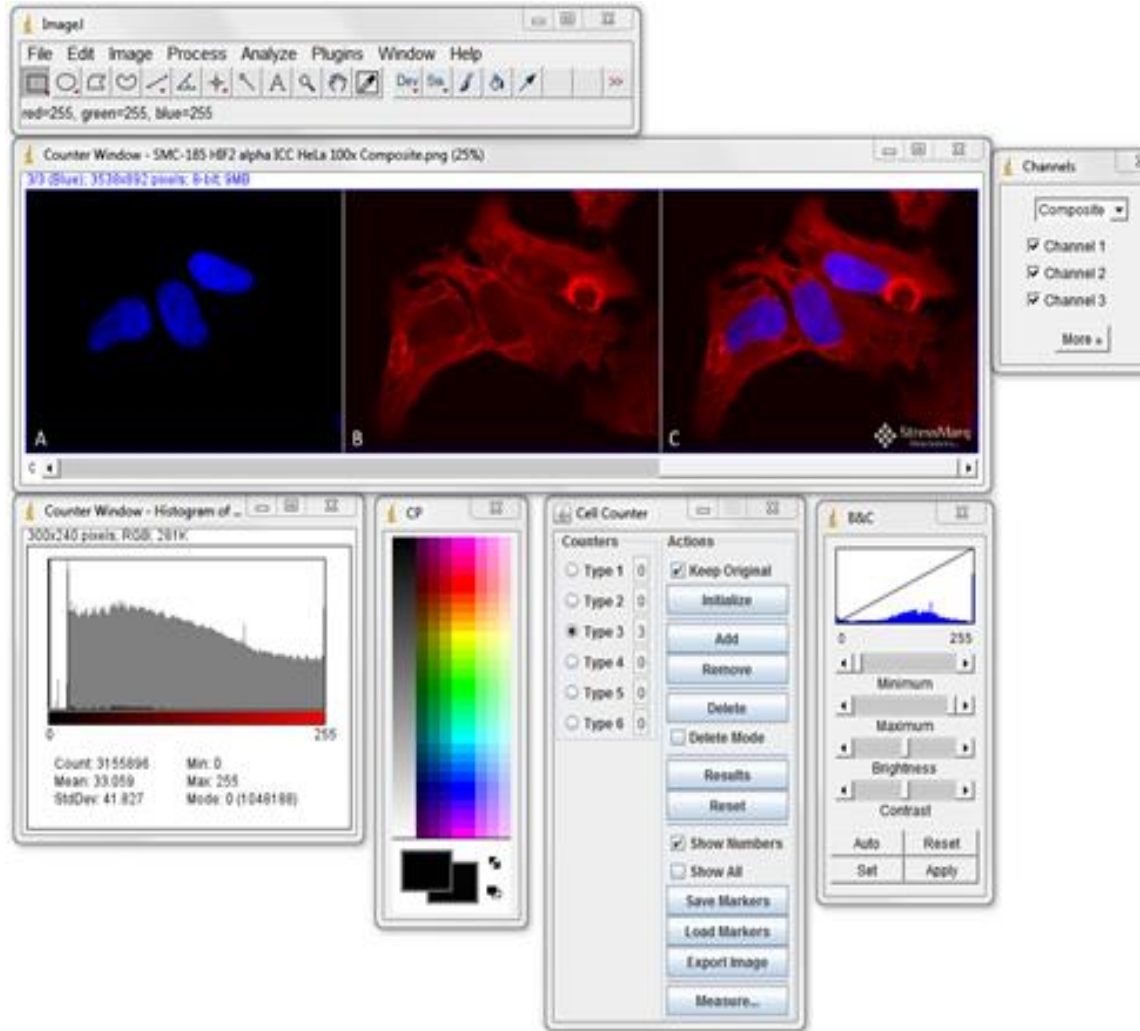
# ТРЕНД ВО БИОМЕДИЦИНА

- Со дигитални техники и алатки да се испита и објасни сложената структура и функцијата на клетките и субклеточните структури
- Експериментите за дигитална обработка на микроскопските слики станаа главен извор на податоци за тестирање и валидирање на хипотези поврзани со основните клеточни и молекуларни феномени
- Главна тема на биомедицинските истражувања
- Откивање на компатибилни софистицирани алгоритми и алатки за обработка на слики

## Molecular imaging & therapy



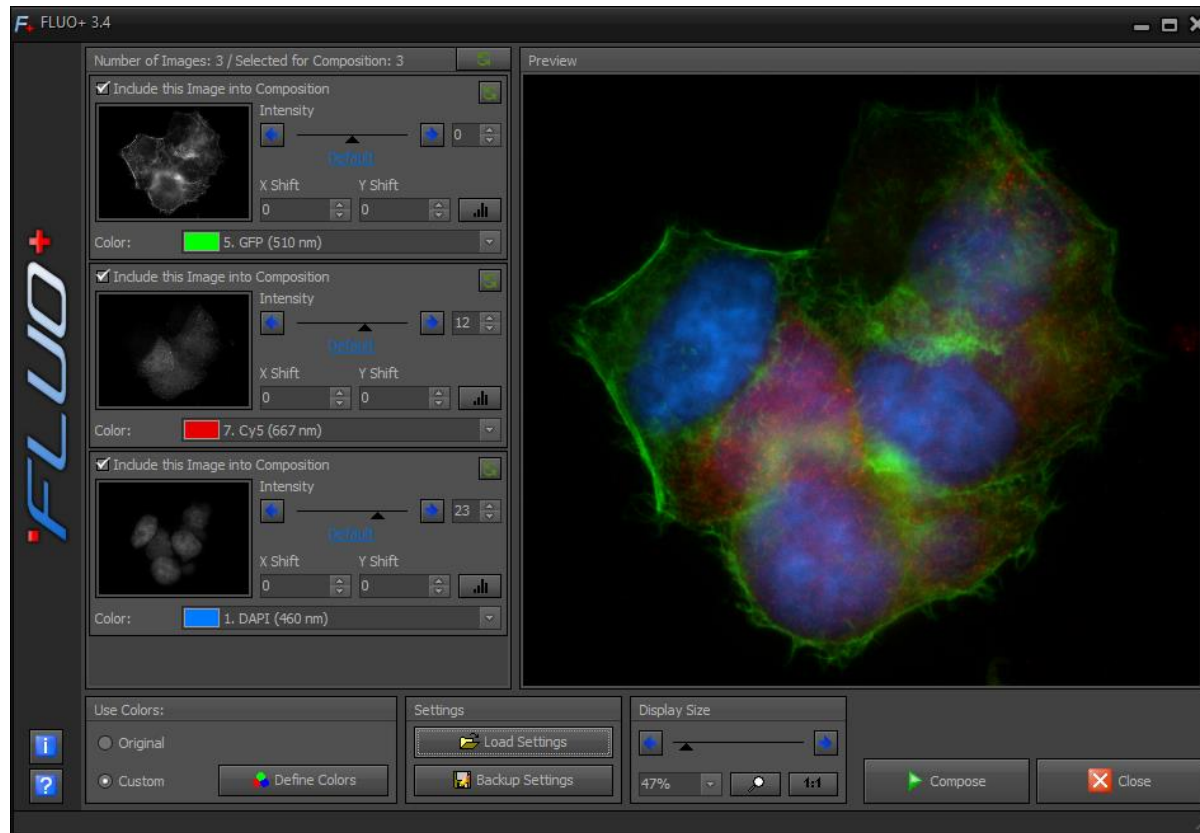
# Image Analysis Software Tools for Microscopy



Extract measurements from  
images with **CellProfiler**.

Analyze data with **CellProfiler Analyst** and  
train it to recognize complex phenotypes.

## Software Module for Multi-color Fluorescence Imaging for QuickPHOTO

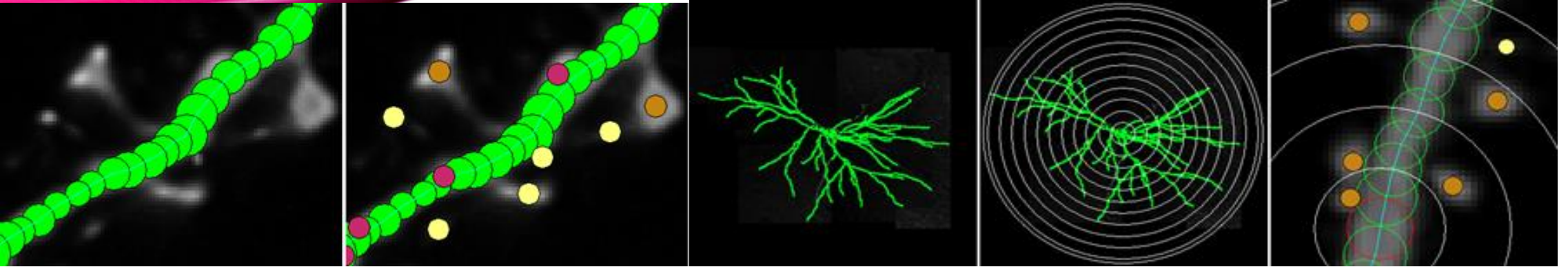


## 3D Digital Microscope PRO-3D 2.0



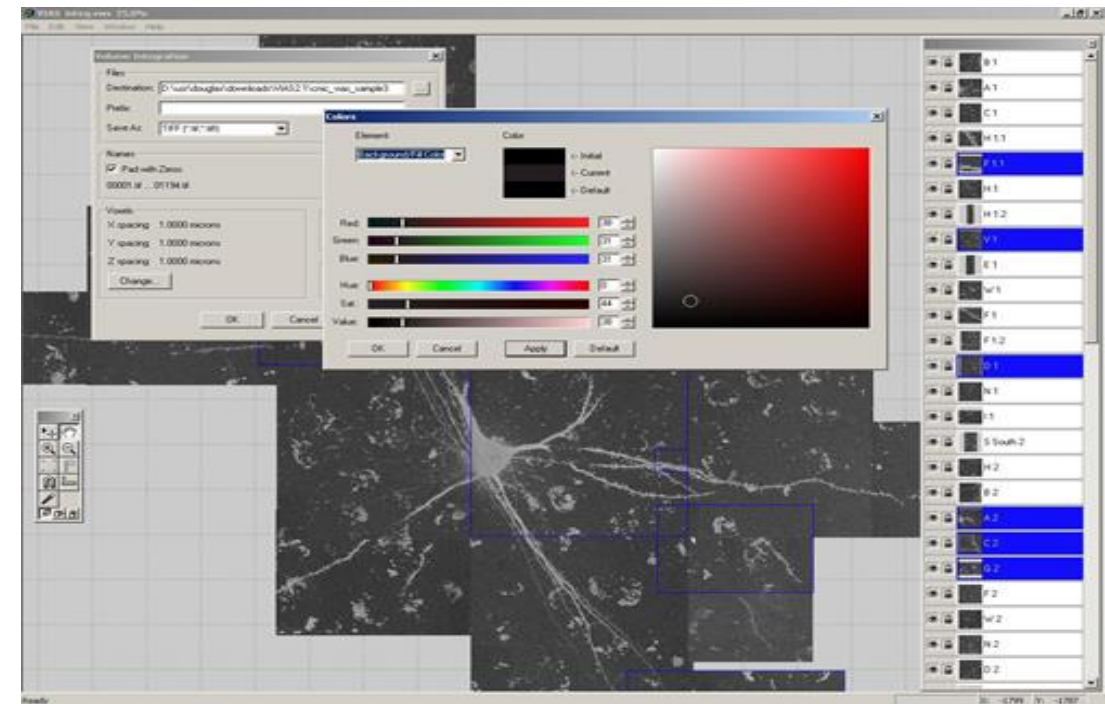


## Quantitative analysis on dendritic spine morphology



### Neuronstudio – *Automatic Neuron Tracing Super-Tool*

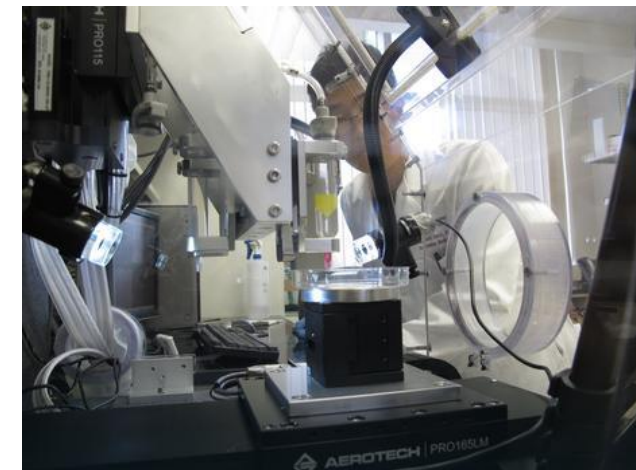
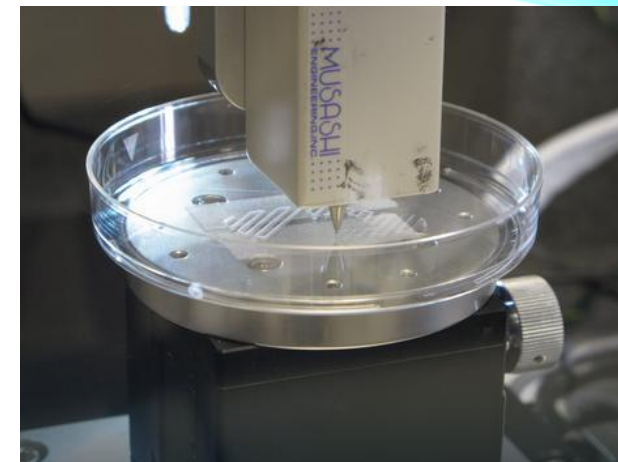
Tile multiple confocal microscopy image stacks into a single 3D image dataset



Volume Integration and Alignment System (VIAS) – *Image Stack Alignment Software*

# 3D Printing Human Organs

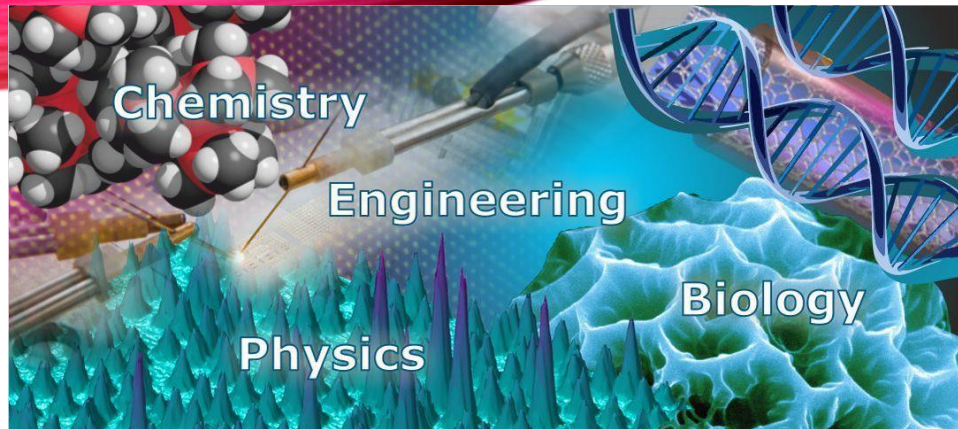
- Матични клетки
- Биоразградлив материјал/гел
- 3D органи (крвни садови, ушна школка, мускули, нерви, мрежница, кожа.....
- Тренд во регенеративна и репаративна медицина
- трансплантација??



<https://www.youtube.com/watch?v=DaXxxwjsLvI>



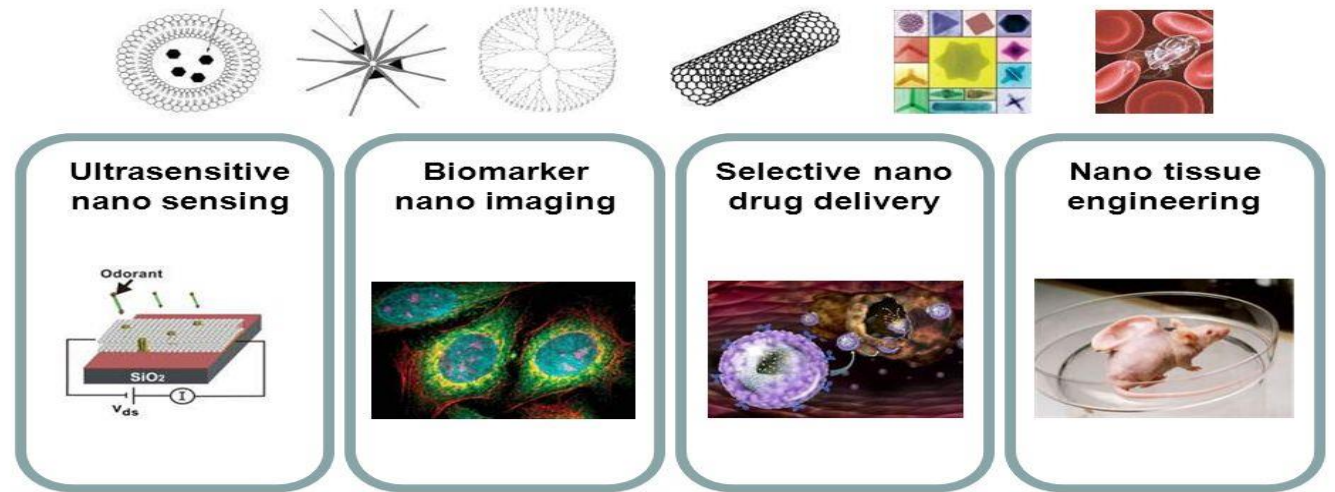
# НАНОТЕХНОЛОГИЈА



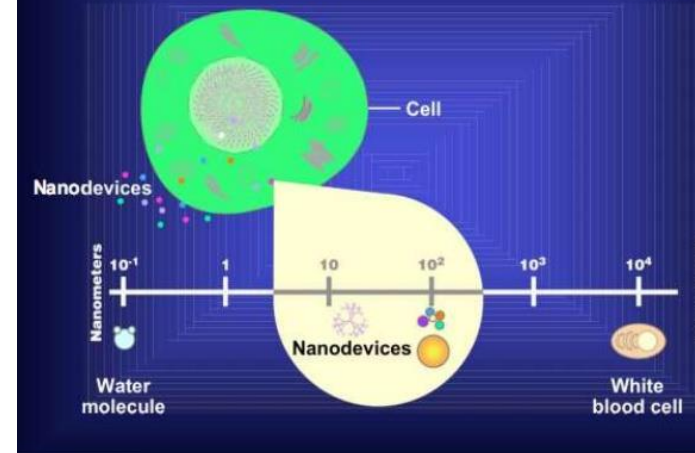
- nm ( $1\text{mm}=10^{-9}\text{m}$ )
- Инженерска млада дисциплина=биохемија+бофизика+квантна механика
- Медицина/рана дијагностика/неинвазивни методи
- Фармацевтска индустрија/токсичност и безбедност
- Биомедицина/молекуларна биологија +индустрија+нанотехнологија
- Мултидисциплинарност
- Квантни честички/квантна физика
- Наномедицина/честички, матријали, апарати, сензори (1-100 nm)

## Nanomedicine

Medical application of nanotechnology (< 100 nm)



## Nanodevices Are Small Enough to Enter Cells



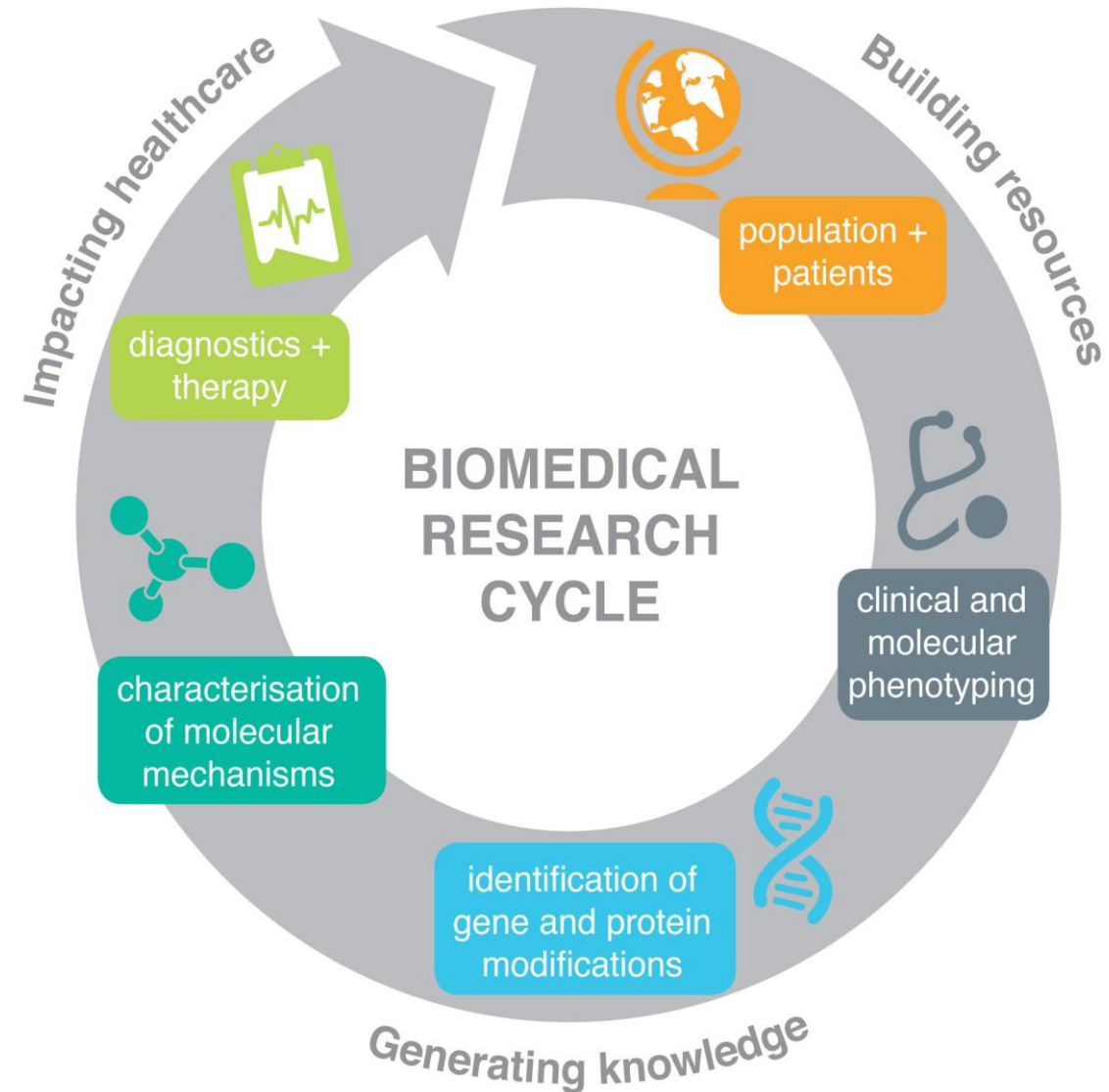


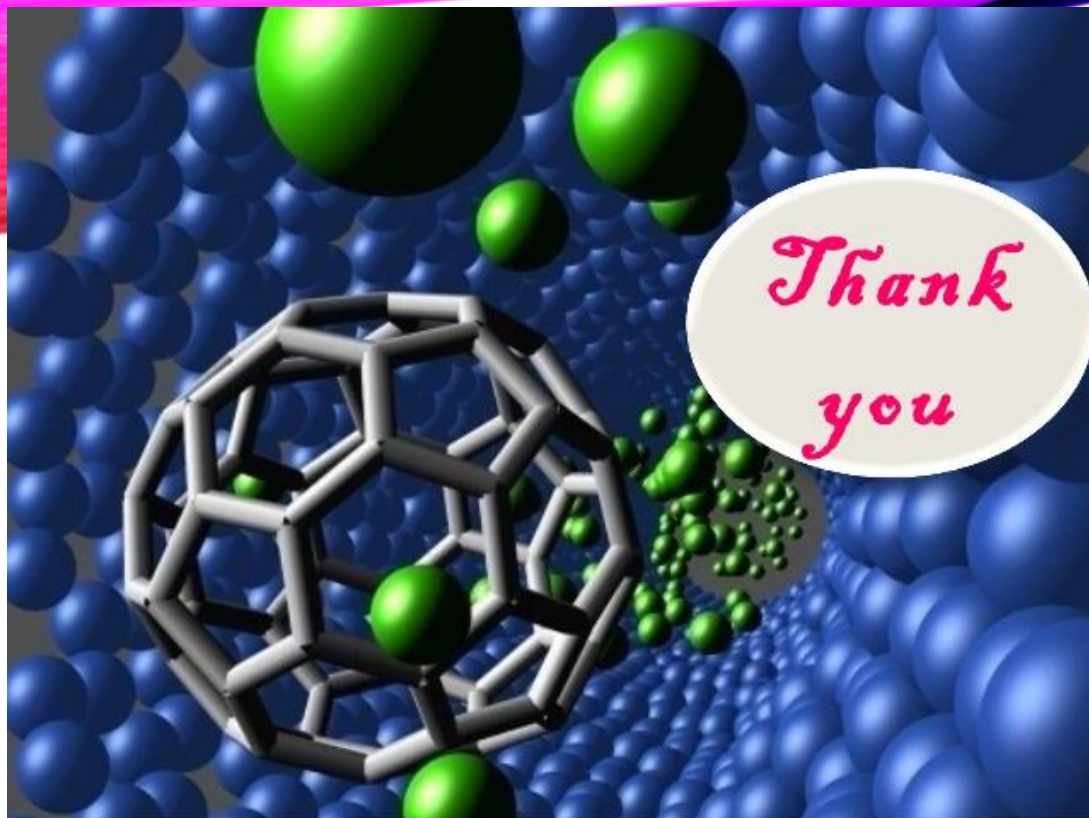
# ЗАКЛУЧОК



- Молекуларно и клеточно ниво
- Превенција+рана дијагностика+терапија
- Биомедицинско инжинерство (медицина+техника)
- Техниката без медицина е слепа
- Медицината без техника е невозможна
- ИМПЕРАТИВ!!

Соработка меѓу инжинер, лекар и биолог





***The Next Big Thing Is Very Small...***

